Lane Medical Library

Aus dem Pharmakolog. Institut der Vereinigten Friedrichs-Universität Halle-Wittenberg. — Direktor: Prof. Dr. M. Kochmann.

Über den quantitativen Nachweis des Atropins auf biologischem Wege.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Vereinigten Friedrichs-Universität Halle-Wittenberg.

Vorgelegt von

CHARLOTTE HARLOS

Zahnarzt

aus

Oberhausen (Rhld.)

HALLE-SAALE

Buchdruckerei C. F. Rode & Sohn

1933.

Das Alkaloid Atropin kann sowohl auf chemischem als auch auf biologischem Wege nachgewiesen werden. Rothlin[3]) betont auf Grund der Versuche von van der Heyde, daß die chemischen Methoden des quantitativen Nachweises genauer sind als die biologischen, und zwar insofern als die prozentualen Fehlergrenzen hierbei verhältnismäßig gering sind. Wenn es sich aber um den quantitativen Nachweis geringer Atropinmengen handelt, so sind die biologischen Methoden den rein chemischen offenbar überlegen, da das biologische Testobjekt einen äußerst feinen Indikator darstellt; dazu kommt noch, daß sich in manchen Fällen der chemische Nachweis schwieriger gestalten kann und mehr Zeit erfordert.

Geeignete biologische Methoden zur quantitativen Bestimmung des Atropins sind mehrfach ausgearbeitet worden. Metzner[1]), Hug, Schinz[2]) und Rothlin haben die Aufhebung der Vaguserregbarkeit durch Atropin gegenüber faradischen Reizen und Kühl[4]) die Hemmung der Erregbarkeit gegenüber chemischen Reizen aus der Gruppe der parasympathischen Reizgifte (Azetylcholin) benutzt. Während Kühl die Katze als Versuchstier verwandte, haben die zuerst genannten ihre Untersuchungen am Kaninchen angestellt. Fernerhin hat Fernandez[5]) ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Atropin am isolierten Froschherzen (Rana esculenta und temporaria) ausgearbeitet. Neuerdings hat Pulewka[6]) die pupillenerweiternde Wirkung am Auge der weißen Maus zur Grundlage eines quantitativen Bestimmungsverfahrens gemacht. Die Arbeit von Pulewka erschien, als die vorliegenden Versuche nahezu abgeschlossen waren.

Bei Anwendung von biologischen Methoden zum quantitativen Nachweis des Atropins muß man sich von vornherein darüber klar sein, daß sich nicht ohne weiteres das Atropin selbst, sondern nur eine Wirkung, die für das Atropin charakteristisch ist, nachweisen läßt. Damit ist natürlich noch nicht gesagt, daß an dem Wirkungserfolg nicht auch eine andere Substanz beteiligt sein kann, sei es, daß diese Substanz eine ähnliche Wirkung

aufweist, sei es, daß diese Substanz, ohne selbst atropinähnliche Wirkungen zu besitzen, die des Atropins unterstützt oder hemmt. Bei unserem Alkaloid kommt noch hinzu, daß seine Wirkung von dem l-Hyoscyamin getragen wird, während das in ihm enthaltene r-Hyoscyamin an dem Erfolg kaum beteiligt ist. Diese Tatsache ist in mancher Hinsicht zweifellos ein Nachteil aber in anderen Fällen auch wiederum von großem Nutzen gegenüber der chemischen Methode; denn diese gibt nur Aufschluß über die Gesamtmenge des Hyoscyamins, vermag aber nichts über die wirksame Substanz auszusagen. Gerade das aber ist vom pharmakologischen und toxikologischen Standpunkt aus das Wichtigste. Aus diesen Erörterungen ergibt sich, daß wir mit Hilfe des biologischen Verfahrens das l-Hyoscyamin nachweisen, mit Hilfe der chemischen Methoden aber die Summe der beiden optischen Isomeren. Es ist selbstverständlich, daß unter Umständen beide Nachweismethoden angewendet werden müssen, um festzustellen, wieviel wirksames links drehendes und wieviel unwirksames rechts drehendes Hyoscyamin vorhanden ist. Beide Methoden schließen also einander keineswegs aus.

Im Folgenden wollen wir uns nicht mit diesen besonderen Fragen beschäftigen, sondern aus dem ganzen Komplex nur einen Punkt herausgreifen. Wir wollen nämlich erörtern, ob die Verminderung der Vaguserregbarkeit gegenüber faradischen Reizen für den quantitativen Nachweis brauchbar ist und insbesondere, ob es möglich ist, aus der zeitlichen Dauer der Atropinwirkung einen Schluß auf seine Menge zu ziehen.

Die Unerregbarkeit gegenüber dem faradischen Reiz schien uns geeigneter als die Methode von Kühl, der die Wiederkehr der Vaguserregbarkeit an der chemischen Reizung mittels Azetylcholin ermaß. Das Verfahren von Kühl schien uns ursprünglich genauer und besser zu sein, aber wir glauben, daß seine Fehlerquellen doch recht erheblich sind; denn das Azetylcholin ist ein überaus leicht zersetzlicher Körper, der Veränderungen selbst dann ausgesetzt ist, wenn seine Lösungen in Ampullen eingeschlossen sind. Die Methode von Rothlin und anderen könnte möglicherweise den Nachteil haben, daß sie weniger empfindlich, und die Vagusreizung mit Hilfe des elektrischen Stromes gewisse Schwierigkeiten bereitet.

Dieser letztere Einwand schien uns aber doch nicht ganz gerechtfertigt, und er ließe sich vielleicht dadurch entkräften, daß man die Reizung durch eine zweckmäßige Auswahl der Reizelektrode sicher gestaltet. Die Aufgabe der vorliegenden Versuche, die ich auf Anregung von Prof. Kochmann unternahm, war also — um es noch einmal zusammenzufassen — eine zweckmäßige elektrische Reizung auszuwählen und zu prüfen, ob die zeitliche Dauer der Vagusunerregbarkeit gegenüber einem bestimmten faradischen Reiz sich quantitativ auswerten läßt.

Im Einzelnen gingen wir folgendermaßen vor: Kaninchen von 2—$2^1/_2$ kg männlichen und weiblichen Geschlechts wurden durch Urethan, daß die Vaguserregbarkeit nicht beeinflußt, tief narkotisiert; die Tiere erhielten 1 g Aethyl-Urethan in 10 %iger Lösung pro kg per os. Nahmen die Tiere spontane Seitenlage ein, so wurden sie auf das Operationsbrett aufgespannt, und auf der linken Halsseite der Vagus vorsichtig in einer Ausdehnung von 3 cm freigelegt. Es ist streng darauf zu achten, daß der Nerv nicht mit der Pinzette gefaßt, sondern nur mit stumpfen Instrumenten berührt wird. Auf der rechten Halsseite wurde die Arteria carotis communis und die Vena jugularis freigelegt. In letztere wurde eine Metallkanüle eingebunden, die auf eine Tuberkulinspritze paßte. In die Carotis wurde in der üblichen Weise eine Glaskanüle eingebunden, die durch einen dickwandigen Gummischlauch mit einem sehr empfindlichen Gummimanometer verbunden wurde. Dieses wurde mit Hilfe eines Hg-Manometers vor jedem Versuch neu geeicht. Der auf der linken Halsseite freigelegte Vagus wurde auf Platinelektroden gelegt, die nach dem Vorgange von Junkmann in eine Glasröhre so eingeschlossen waren, daß nur gerade ein kleiner Einschnitt des Rohres die Einführung des Vagus gestattete. Nunmehr wurde der Vagus gereizt. Der sekundäre Strom eines geeichten Du Bois-Reymond'schen Schlittenapparates diente zur Reizung. Es wurde die Stromstärke ausgewählt, die imstande war, den Blutdruck deutlich zu senken. Der Reiz wurde immer genau 5 Sekunden lang angewendet. Nach 15 Minuten wurde in der gleichen Weise festgestellt, ob sich die Vaguserregbarkeit geändert habe, d. h. ob die Heizstärke die gleiche geblieben sei. War das nicht der Fall, so wurde die Stromintensität so verändert, daß wiederum

die gleiche Wirkung wie vorher zustande kam. Dann wurde dem Tier die zu prüfende, sorgfältig hergestellte Atropinlösung intravenös injiziert, und nunmehr in Abständen von einer Minute die Vaguserregbarkeit geprüft, bis sie wieder auf die alte Höhe zurückgekehrt war. Jetzt wurde die Atropingabe verändert, indem sie doppelt, dreifach und unter Umständen sogar vierfach gewählt wurde oder indem bestimmte Bruchteile der ersten Gabe injiziert wurden. Nach jeder Injektion wurde in der eben beschriebenen Weise die Dauer der Atropinwirkung geprüft und mit den vorhergehenden Zeiten verglichen. Die Ergebnisse, die an 18 Tieren gewonnen wurden, lassen sich aus den folgenden Tabellen I und II entnehmen. In der Tabelle I sind diejenigen Gabengrößen zwischen 0,2 mg und 0,8 mg Atropinum sulfuricum, in der Tabelle II zwischen 0,025 mg und 0,2 mg gewählt worden. Es wird sich zeigen, daß eine gesonderte Besprechung nötig ist.

Tabelle I.

Tier Nr.	Datum	Gewicht in g und Geschlecht	Atrop. sulf. intravenös in mg	Dauer der Vaguslähmung in Minuten	Reizintensität
XI	8. III. 1933	2500 ♀	0,2 0,4 0,6	5,5 10 14,5	10
XII	9. III. 1933	2100 ♂	0,2 0,2 0,2 0,4 0,8 1,6	1 1 1 1 1 1	14 6
XIII	10. III. 1933	1800 ♂	0,2 0,4 0,6 0,8	6,5 12,5 18,5 24,5	9
XIV	13. III. 1933	2000 ♂	0,1 0,2 0,4 0,6 0,8	4,5 9,5 14,5 20,5 24,5	6
XV	14. III. 1933	2200 ♀	0,2	20	13
XVI	15. III. 1933	2000 ♂	0,2 0,4 0,6 0,8	10,5 21,5 32,5 24	10

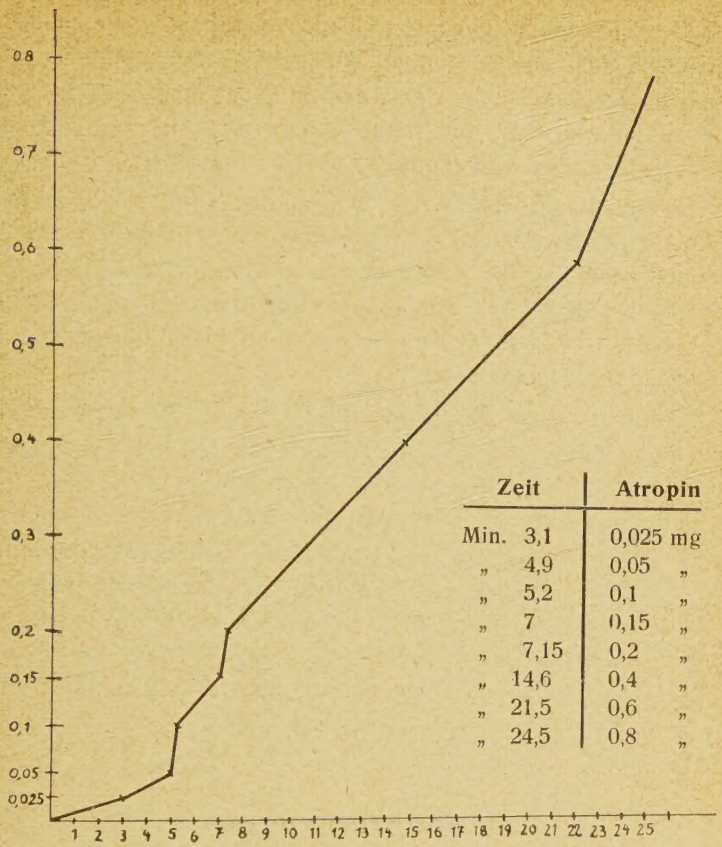
Tabelle II.

Tier Nr.	Datum	Gewicht in g und Geschlecht	Atrop. sulf. intravenös in mg	Dauer der Vaguslähmung in Minuten	Reizintensität
I	18. II. 1933	2300 ♂	0,025 0,05	6,5 14	8
II	20. II. 1933	2500 ♀	0,025 0,05 0,1 0,2	1 2 4 5	18
III	22. II. 1933	2700 ♀	0,1 0,2	4,5 Nach 20 Min. Vagus noch unerregbar	4
IV	25. II. 1933	1750 ♂	0,025 0,05 0,1	14,5 19 30	8
V	28. II. 1933	2200 ♂	0,025 0,05 0,1 0,2	3 5,5 6,5 5	15
VI	1. III. 1933	2300 ♀	0,05	Nach 25 Min. Vagus noch unerregbar	8
VII	2. III. 1933	2800 ♀	0,05 0,1 0,15 0,2	4 6,5 5 6	10
VIII	3. III. 1933	2600 ♀	0,05 0,1 0,15 0,2	1,5 3,5 7,5 6,5	18
IX	4. III. 1933	1700 ♂	0,05 0,1 0,2 0,4	1 1 1 1	8 3
X	7. III. 1933	2500 ♂	0,05 0,1 0,15 0,2	3 5,5 6,5 5	11
XVII	17. III. 1933	1800 ♀	0,025 0,05 0,1 0,15 0,2	2 3,5 6,5 9 12	3
XVIII	18. III. 1933	2700 ♀	0,05 0,025 0,1	6 Nach 7 Min. Vagus noch unerregbar Nach 15 Min. Vagus noch unerregbar	8 6 9

Es ist ersichtlich, daß die Tiere recht verschieden reagierten. Ausgeschaltet müssen die Tiere werden, die aus irgendeinem

Grunde mit einer Blutdrucksteigerung antworteten. Bei zwei oder drei anderen Tieren zeigte sich die Blutdrucksenkung erst nach Aufhören des elektrischen Reizes. Auch diese wurden für die Beantwortung unserer Fragestellung nicht verwendet. Immerhin blieben noch 14 Tiere übrig, die die erwartete Wirkung auf den elektrischen Reiz zeigten. Es ergibt sich deutlich in der weitaus größten Mehrzahl der Versuche, daß mit der Gabenvergrößerung die Wirkungsdauer zunimmt, doch war ein proportionales Verhältnis nicht immer festzustellen. Am besten war ein solches Verhalten selbst bei viermaliger Injektion bei großen Gaben des Atropins ersichtlich: so z. B. bei Kaninchen Nr. 13, bei dem die Dauer der Atropinwirkung auffällig gut mit der verabreichten Menge und sogar mit einer Atropingabe, die das vierfache der ersten betrug, übereinstimmte. Bei anderen Versuchen mit kleineren Gaben war wenigstens eine Proportionalität bei den ersten drei Injektionen, bei wieder anderen traf dies nur bei zwei Injektionen zu. Das war besonders der Fall bei der Gabengröße von 0,025 mg Atropinum sulfuricum oder der zwei oder höchstens drei mal größeren Gabe. Was nun die Wirkungsdauer einer bestimmten Atropingabe bei den einzelnen Tieren anbelangt, so konnte ich darin gleichfalls wie Schinz, Rothlin, Metzner und Hug eine verhältnismäßig hohe Differenz beobachten. So betrug z. B. bei Tier Nr. 2 nach einer Injektion von 0,05 mg Atropinum sulfuricum die Dauer der Vaguslähmung 2 Minuten, während sie bei Tier Nr. 7 4 Minuten betrug, und bei Tier Nr. 6 war der Vagus noch nach 25 Minuten völlig unerregbar. Einige Tiere reagierten sogar schon eine Minute nach der Injektion von verschieden großen Atropingaben auf den elektrischen Reiz mit der üblichen Blutdrucksenkung.

Es schien uns interessant und aufschlußreich zu sein, alle Versuche zusammenzufassen, indem wir die Durchschnittswerte der Wirkungsdauer für die 8 verschieden großen Atropingaben berechneten. Die gefundenen Durchschnittswerte wurden in ein Koordinatensystem eingetragen, und zwar gibt die Abszisse die Wirkungsdauer des Atropins und die Ordinate die Atropingaben an. Die auf diese Weise erhaltenen Punkte miteinander verbunden ergaben folgende Kurve:



Zeit	Atropin
Min. 3,1	0,025 mg
„ 4,9	0,05 „
„ 5,2	0,1 „
„ 7	0,15 „
„ 7,15	0,2 „
„ 14,6	0,4 „
„ 21,5	0,6 „
„ 24,5	0,8 „

Die Kurve verläuft zunächst bei den Atropingaben zwischen 0,025 mg und 0,2 mg Atropinum sulfuricum gezackt, während sie nachher bei den Gaben zwischen 0,2 mg und 0,8 mg eine fast gerade Linie darstellt.

Wir können also sagen, daß etwa in 75% der Fälle die zweifache Dosis eine doppelt so lange Wirkungsdauer besitzt wie die einfache Gabe, daß aber auch die dreifache Gabe in ungefähr 60% 3 mal so lange anhält. Die verhältnismäßig großen Gaben von 0,2 mg bis 0,6 mg und 0,8 mg Atropinum sulfuricum zeigen diese Proportionalität besser als die kleinen Gaben von 0,025 mg, bei denen die doppelte Gabe, manchmal auch die dreifache die dementsprechende Wirkungsdauer aufweist. Aber selbst wenn die zeitliche Dauer nicht ganz proportional verläuft, so dürfte

Literaturverzeichnis.

1. Metzner, R.: Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 68, S. 110, 1912.
2. Schinz, H.: ebenda Bd. 81, S. 193, 1917.
3. Rothlin, E.: Pflügers Arch. f. d. ges. Physiologie Bd. 206, S. 614, 1924.
4. Kühl, G.: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 109, S. 295, 1925.
5. Fernandez, I.: ebenda Bd. 127, S. 197, 1927.
6. Pulewka, P.: Bd. 168, S. 307, 1932.

Lebenslauf.

Am 4. Juli 1909 wurde ich, Charlotte Harlos, Tochter des Reichsbahnmaschineninspektors Wilh. Harlos und seiner Ehefrau Emma geb. Große, in Oberhausen (Rhld.) geboren.

Die ersten Schuljahre verbrachte ich auf dem Lyzeum in Oberhausen. Infolge Versetzungen meines Vaters besuchte ich dann einige Jahre das Lyzeum in Duisburg-Ruhrort und in Dessau von der Untertertia ab die Studienanstalt. 1926 zogen wir nach Halle/Saale, wo ich am 2. März 1929 am Städtischen Lyzeum nebst Studienanstalt der realgymn. Richtung die Reifeprüfung ablegte.

Ich studierte 8 Semester Zahnheilkunde. Am 8. August 1930 nach drei vorklinischen Semestern, bestand ich in Halle/Saale die zahnärztliche Vorprüfung. Nach 4 klinischen Semestern, die ich gleichfalls in Halle studierte, bestand ich hier am 24. November 1932 die zahnärztliche Staatsprüfung.